

(27)

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : 07-258278
(43) Date of publication of application : 09.10.1995

(51) Int. Cl. C07F 9/09
A61K 31/665

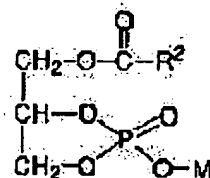
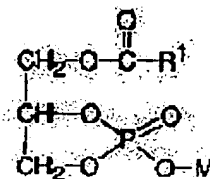
(21) Application number : 06-072837 (71) Applicant : SAGAMI CHEM RES CENTER
(22) Date of filing : 18.03.1994 (72) Inventor : KOBAYASHI SUSUMU
IMAI NOBUYUKI
ONIMURA KENJIRO
SHINAGAWA RUMI
NAKAMURA SHIYUUKO
MUROFUSHI KIMIKO

(54) DNA POLYMERASE ALPHA INHIBITOR CONTAINING 1-O-ACYLGLYCEROL-2,3-PHOSPHATE
DERIVATIVE AS ACTIVE INGREDIENT

(57) Abstract:

PURPOSE: To obtain a DNA polymerase α inhibitor containing a specific acyl glycerolphosphate derivative as an active ingredient and useful for carcinostatic agents.

CONSTITUTION: This DNA polymerase α inhibitor contains 1-O- acylglycerol-2,3-phosphate derivative expressed by formula I (R¹ is a 10-30C alkenyl or an alkynyl; M is H or a pair cation). Furthermore, a 1-O- acylglycerol-2,3-phosphate derivative of formula II (R² is a 10-30C alkynyl); e.g. 1-O-[(Z)-9-hexadecenoyl]-2,3-O-isopyrideneglycerol is a new compound. The compound of formula II is obtained by reacting, e.g. 2,3-O-isopyrideneglycerol with (Z)-9-hexadecenoic acid in the presence of dicyclohexylcarbodiimide.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]
[Date of sending the examiner's decision
of rejection]
[Kind of final disposal of application
other than the examiner's decision of
rejection or application converted]

(27)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-258278

(43) 公開日 平成7年(1995)10月9日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F.I	技術表示箇所
C 0 7 F 9/09		K 9155-4H		
A 6 1 K 31/665	ADU			

審査請求 未請求 請求項の数2 FD (全6頁)

(21) 出願番号 特願平6-72837

(22) 出願日 平成6年(1994)3月18日

(71) 出願人 000173762

財団法人相模中央化学研究所

神奈川県相模原市西大沼4丁目4番1号

(72) 発明者 小林 進

東京都目黒区中根2-2-7

(72) 発明者 今井 信行

神奈川県相模原市西大沼4-4-1

(72) 発明者 鬼村 謙二郎

神奈川県相模原市南台1-9-1

(72) 発明者 品川 留美

京都府京都市下京区中堂寺坊城町3-305

(72) 発明者 中村 修子

神奈川県綾瀬市小園南2-20-6

最終頁に続く

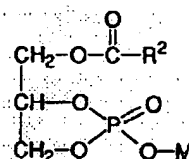
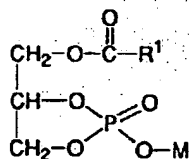
(54) 【発明の名称】 1-O-アシルグリセロール-2, 3-ホスフェート誘導体を有効成分とするDNAポリメラーゼαの阻害剤

(57) 【要約】

【目的】 優れた活性を有するDNAポリメラーゼαの阻害剤を提供する。

【構成】 下記一般式

【化1】



(式中、R²は炭素数10～30の直鎖状もしくは分枝状アルキニル基を表わし、Mは水素原子または対カチオン基を表わす) で示される1-O-アシルグリセロール-2, 3-ホスフェート誘導体。

(式中、R¹は炭素数10～30の直鎖状もしくは分枝状アルケニル基またはアルキニル基を表わし、Mは水素原子または対カチオン基を表わす) で示される1-O-アシルグリセロール-2, 3-ホスフェート誘導体を有効成分とするDNAポリメラーゼαの阻害剤、及び下記一般式

【化2】

(2)

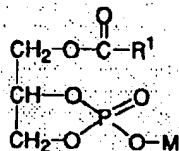
特開平7-258278

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記一般式

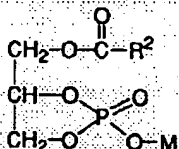
【化1】



(式中、R¹は炭素数10～30の直鎖状もしくは分枝状アルケニル基またはアルキニル基を表わし、Mは水素原子または対カチオン基を表わす)で示される1-*O*-アシルグリセロール-2, 3-ホスフェート誘導体は有効成分とするDNAポリメラーゼαの阻害剤。

【請求項2】 下記一般式

【化2】



(式中、R²は炭素数10～30の直鎖状もしくは分枝状アルキニル基を表わし、Mは水素原子または対カチオン基を表わす)で示される1-*O*-アシルグリセロール-2, 3-ホスフェート誘導体。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、抗腫瘍剤としての用途が期待されるグリセリン脂質を有効成分とするDNAポリメラーゼαの阻害剤及び新規グリセリン脂質に関する。

【0002】

【従来の技術】優れた制癌剤の開発には、社会からの強力な要請があり、これまで多くの制癌剤が開発され実用に供されてきた。しかし、いまなお、より効果的、かつ副作用の少ない制癌剤の開発が望まれているのが現状であり、既知のものとは異なる新規な骨格、構造を有する抗腫瘍活性化合物から、現在実用に供されている制癌剤より優れた特徴を有する制癌剤が開発される可能性は極めて大きい。DNAポリメラーゼαは細胞増殖に本質的に関与している酵素であり、DNAポリメラーゼαの阻害剤の中から優れた特徴を有する制癌剤が開発される可能性は極めて大きい。しかしながら、これまでに知られているDNAポリメラーゼαの阻害剤としては、アフイディコリン (W. Dalziel et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 2841 (1973).) あるいは、PHYLPA (K. Murakami-Murofushi et al., J. Biol. Chem., 267, 21512 (1992).) など例が少ない。なお、EP-317, 968-A には、液体静電現像剤としての、1-*O*-オレオイルグリセロ

2

ール-2, 3-ホスフェートが記載されているが、アルキニル基を有するものは開示されておらず、またDNAポリメラーゼαの阻害活性については全く記載がない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、新規なDNAポリメラーゼαの阻害剤を提供することを目的とする。

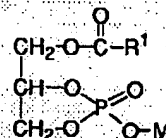
【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者等は、DNAポリメラーゼαの阻害剤について鋭意検討した結果、特定の1-*O*-アシルグリセロール誘導体がDNAポリメラーゼαを強力に阻害することを見だし、本発明を完成させるに至った。

【0005】すなわち本発明は、下記の一般式

【0006】

【化3】

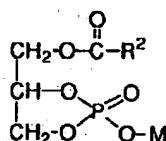


【0007】(式中、R¹は炭素数10～30の直鎖状もしくは分枝状アルケニル基またはアルキニル基を表わし、Mは水素原子または対カチオン基を表わす)で示される1-*O*-アシルグリセロール-2, 3-ホスフェート誘導体は有効成分とするDNAポリメラーゼαの阻害剤に関する。

【0008】さらに本発明は新規化合物である下記一般式

【0009】

【化4】



【0010】(式中、R²は炭素数10～30の直鎖状もしくは分枝状アルキニル基を表わし、Mは水素原子または対カチオン基を表わす)で示される1-*O*-アシルグリセロール-2, 3-ホスフェートに関する。

【0011】上記式中の置換基R¹は、炭素数10～30の直鎖状もしくは分枝状アルケニル基またはアルキニル基であり、炭素数12～20、とくに炭素数13～15のものが阻害活性の点で好ましい。これらの置換基R¹の具体例として、8-デセニル基、8-ウンデセニル基、8-ドデセニル基、8-トリデセニル基、8-テトラデセニル基、8-ペンタデセニル基、8-ヘキサデセニル基、8-ヘプタデセニル基、8-オクタデセニル基、8-イコセニル基、8-ドコセニル基、ヘプタデカ-8, 11-ジエニル基、ヘプタデカ-8, 11, 14-トリエニル基、ノナデカ-4, 7, 10, 13-テト

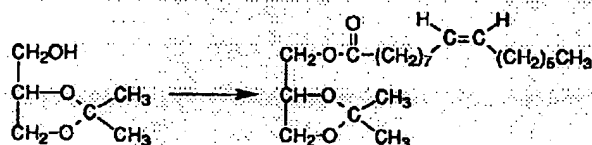
(3) 特開平7-258278

3

ラエニル基、ノナデカ-4,7,10,13,16-ペンタエニル基、ヘニコサ-3,6,9,12,15,18-ヘキサエニル基などのアルケニル基、あるいは、8-デシニル基、8-ウンデシニル基、8-ドデシニル基、8-トリデシニル基、8-テトラデシニル基、8-ペンタデシニル基、8-ヘキサデシニル基、8-ヘプタデシニル基、8-オクタデシニル基、8-イコシニル基、8-ドコシニル基、ヘプタデカ-8,11-ジエニル基などのアルキニル基を挙げることができる。

【0012】また、上記式中の置換基 R^2 は、炭素数10~30の直鎖状もしくは分枝状アルキニル基であり、炭素数12~20、とくに炭素数13~15のものが阻害活性の点で好ましい。この置換基 R^2 の具体例として、8-デシニル基、8-ウンデシニル基、8-ドデシニル基、8-トリデシニル基、8-テトラデシニル基、8-ペンタデシニル基、8-ヘキサデシニル基、8-ヘプタデシニル基、8-オクタデシニル基、8-イコシニル基、8-ドコシニル基、ヘプタデカ-8,11-ジエニル基などのアルキニル基を挙げることができる。

【0013】さらに、上記式中のMが対カチオン基である場合、その例示としてナトリウムイオン、カリウムイオン、リチウムイオン、アンモニウムイオンなどを挙げることができる。



【0020】(Z)-9-ヘキサデセン酸 (0.631 g, 2.48 mmol) をジクロロメタンに溶解させ、0℃下ジメチルアミノピリジン (0.028 g, 0.23 mmol)、2,3-オ-イソピリデングリセロール (0.298 g, 2.25 mmol)、ジシクロヘキシルカルボジイミド (0.464 g, 2.25 mmol) を加えた。室温で2時間攪拌し、40℃で1時間攪拌後、結晶を濾別し、結晶をジクロロメタンで洗浄した。ジクロロメタン層をまとめて減圧留去後、得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン) で精製し、1-O-[(Z)-9-ヘキサデセノイル]-2,3-O-イソピリデングリセロール (0.752 g, 2.04 mmol, 収率90%) を得た。

【0021】 $^1\text{H-NMR}$ (90MHz, CDCl_3): δ = 0.88 (3H, t, J = 7.0 Hz, CH_3), 1.10-1.50 (16H, m, $\text{C}(4')\text{H}_2$, $\text{C}(5')\text{H}_2$, $\text{C}(6')\text{H}_2$, $\text{C}(7')\text{H}_2$, $\text{C}(12')\text{H}_2$, $\text{C}(13')\text{H}_2$, $\text{C}(14')\text{H}_2$, $\text{C}(15')\text{H}_2$), 1.38 (3H, s, イソプロピリデン- CH_3), 1.43 (3H, s, イソプロピリデン- CH_3), 1.57-1.77 (2H, m, $\text{C}(3')\text{H}_2$), 1.87-2.17 (4H, m, $\text{C}(8')\text{H}_2$, $\text{C}(11')\text{H}_2$), 2.35 (2H, t, J = 7.5 Hz, $\text{C}(2')\text{H}_2$), 3.74 (1H, dd, J = 8.6 Hz, $\text{C}(3)\text{H}$), 4.09 (1H, dd, J = 8.6 Hz, $\text{C}(3)\text{H}$), 4.10 (1H, dd, J = 11.6 Hz, $\text{C}(1)\text{H}$), 4.10-4.50 (2H, m, $\text{C}(1)\text{H}$, $\text{C}(2)\text{H}$), 5.20-5.50 (2H, m, $\text{C}(9')\text{H}$, $\text{C}(10')\text{H}$).

* 【0014】本発明に係わる1-O-アシルグリセロール-2,3-ホスフェートは文献記載の方法 (S. Kobayashi et al., Tetrahedron Letters, 34, 4047 (1993)) に準じて合成することができる。

【0015】本発明の1-O-アシルグリセロール-2,3-ホスフェートは、経口または非経口のいずれの投与形態も可能である。経口投与の場合は、カプセル剤、錠剤、粉剤などの通常の方法で投与することもできる。また、非経口投与の場合には、注射剤、液剤などの剤形で投与される。さらに徐放剤も効果的である。

【0016】本発明の有効成分を製剤化するには、界面活性剤、賦形剤、着色料、保存料及びコーティング助剤などが適宜使用される。また、他の薬剤との併用も行うことができる。

【0017】

【実施例】以下、本発明を製造例、実施例及び試験例によりさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものでないことは言うまでもない。

【0018】製造例1

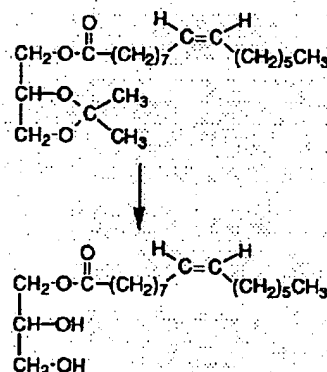
【0019】

【化5】

【0022】製造例2

【0023】

【化6】



【0024】製造例1で得られた1-O-[(Z)-9-ヘキサデセノイル]-2,3-O-イソピリデングリセロール (0.752 g, 2.04 mmol) の乾燥メタノール溶液 (10 mL) にピリジニウムp-トルエンスルホナート (0.1 g, 0.4 mmol) を加え、5時間加熱還流した。室温に冷却後、反応溶液に水を加え、エーテルで抽出した。エーテル層を水で洗浄し無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧濃縮し得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン) で精製し、1-O-[(Z)-9-

(4) 特開平7-258278

5

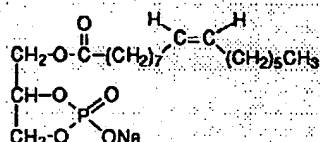
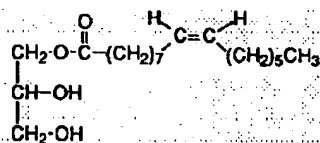
ーヘキサデセノイル]グリセロール (0.300 g, 0.91 mmol, 収率45%) を得た。

【0025】¹H-NMR (90MHz, CDCl₃): δ = 0.90 (3H, t, J = 6.0 Hz, CH₃), 1.08-1.78 (18H, m, C(3')H₂, C(4')H₂, C(5')H₂, C(6')H₂, C(7')H₂, C(12')H₂, C(13')H₂, C(14')H₂, C(15')H₂), 1.88-2.28 (4H, m, C(8')H₂, C(11')H₂), 2.38 (2H, t, J = 7.0 Hz, C(2')H₂), 3.59-4.29 (5H, m, C(1)H₂, C(2)H, C(3)H₂), 5.20-5.60 (2H, m, C(9')H, C(10')H)。

【0026】製造例3

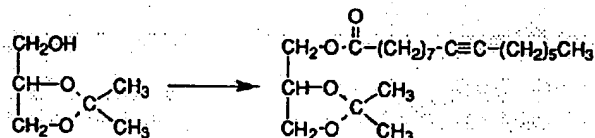
【0027】

【化7】



【I】

【0028】アルゴン雰囲気下、トリアゾール (0.227 g, 3.29 mmol) をテトラヒドロフラン (8 mL) に溶解させ、0℃下オキシ塩化リン (0.10 mL, 1.10 mmol)、トリエチルアミン (0.71 mL, 5.11 mmol) を加え、さらに5分間攪拌し、ホスホリルトリスタゾリドを調製*



【0032】製造例1と同様な方法により、9-ヘキサデシノイル (0.671 g, 2.66 mmol)、2, 3-*O*-イソピリデングリセロール (0.319 g, 2.41 mmol)、ジシクロヘキシルカルボジイミド (0.498 g, 2.41 mmol)、ジメチルアミノピリジン (0.030 g, 0.24 mmol) を反応させ1-*O*-(9-ヘキサデシノイル)-2, 3-*O*-イソピリデングリセロール (0.768 g, 2.10 mmol, 収率87%) を得た。

【0033】¹H-NMR (90MHz, CDCl₃): δ = 0.90 (3H, t, J = 6.0 Hz, CH₃), 1.03-1.95 (24H, m, C(3')H₂, C(4')H₂, C(5')H₂, C(6')H₂, C(7')H₂, C(12')H₂, C(13')H₂, C(14')H₂, C(15')H₂, およびイソプロピリデン-CH₃ × 2), 2.00-2.27 (4H, m, C(8')H₂, C(11')H₂), 2.37 (2H, t, J = 7.0 Hz, C(2')H₂), 3.76 (1H, dd, J = 8.6 Hz, C(3)H), 4.00-4.45 (4H, m, C(1)H₂, C(2)H, C(3)H)。

【0034】製造例5

6

*した。上記の反応溶液に0℃下、製造例2で得られた1-*O*-(9-ヘキサデセノイル)グリセロール (0.300 g, 0.91 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (5.5 mL) を加え、室温下20分間攪拌した後、反応溶液を氷冷した2%塩酸 (50 mL) に注ぎエーテルで抽出した。エーテル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した。別途、水素化ナトリウム (60%鉱油, 0.073 g, 0.91 mmol) をベンタンで洗浄して鉱油を除き、エーテル (1.5 mL) に懸濁したものを上記エーテル溶液に加えた。蒸留水 (8 mL) で抽出し、水層を凍結乾燥することにより1-*O*-(9-ヘキサデセノイル)グリセロール-2, 3-ホスフェートのナトリウム塩 (I)、0.293 g, 0.71 mmol, 収率78%) を得た。

【0029】¹H-NMR (400MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ = 0.89 (3H, t, J = 7.0 Hz, CH₃), 1.24-1.40 (16H, m, C(4')H₂, C(5')H₂, C(6')H₂, C(7')H₂, C(12')H₂, C(13')H₂, C(14')H₂, C(15')H₂), 1.55-1.67 (2H, m, C(8')H₂), 1.98-2.06 (2H, m, C(11')H₂), 2.35 (2H, t, J = 7.6 Hz, C(2')H₂), 3.97 (1H, ddd, J = 6.9, 9.1, 9.1 Hz, C(3)H), 4.20 (1H, dd, J = 5.2, 11.7 Hz, C(1)H), 4.26 (1H, dd, J = 6.1, 11.7 Hz, C(1)H), 4.27 (1H, ddd, J = 6.2, 9.1, 12.4 Hz, C(3)H), 4.58 (1H, dddd, J = 5.2, 6.0, 6.1, 6.2, 6.9 Hz, C(2)H), 5.30-5.40 (2H, m, C(9')H, C(10')H)。

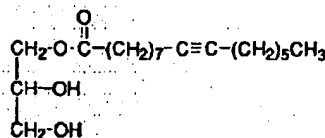
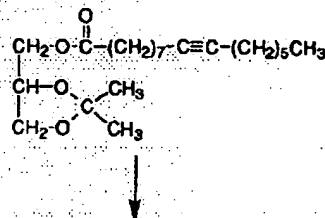
【0030】製造例4

【0031】

【化8】

【0035】

【化9】



【0036】製造例4で得られた1-*O*-(9-ヘキサデシノイル)-2, 3-*O*-イソピリデングリセロール (0.120 g, 0.33 mmol) を乾燥メタノール溶液 (5 mL)

50 中でピリジニウム*p*-トルエンスルホネート (0.016 g,

(5)

特開平7-258278

7

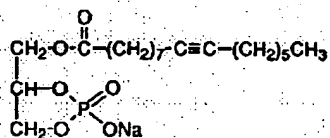
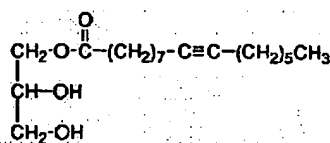
0.065 mmol) を加え、3時間加熱還流した。製造例2と同様な方法により、1-O-(9-ヘキサデシノイル)グリセロール (0.061 g, 0.19 mmol, 収率58%) を得た。

【0037】¹H-NMR (90MHz, CDCl₃): δ = 0.90 (3H, t, J = 6.5 Hz, CH₃), 1.15-1.95 (18H, m, C(3')H₂, C(4')H₂, C(5')H₂, C(6')H₂, C(7')H₂, C(12')H₂, C(13')H₂, C(14')H₂, C(15')H₂), 2.20-2.27 (4H, m, C(8')H₂, C(11')H₂), 2.38 (2H, t, J = 7.0 Hz, C(2')H₂), 3.45-4.47 (5H, m, C(1)H₂, C(2)H, C(3)H₂).

【0038】実施例1

【0039】

【化10】



【II】

【0040】製造例3と同様な方法により、トリアゾール (0.047 g, 0.68 mmol)、オキシ塩化リン (0.02 mL, 0.23 mmol)、トリエチルアミン (0.15 mL, 10.5 mmol) からホスホリルトリアゾリドのテトラヒドロフラン溶液 (2 mL) を調製した。上記溶液に0℃下、製造例5で得られた1-O-(9-ヘキサデシノイル)グリセロール (0.061 g, 0.19 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (1 mL) を加え、室温下20分間反応させた。製造例3と同様な方法により1-O-(9-ヘキサデシノイル)グリセロール-2, 3-ホスフェートのナトリウム塩 (I), 0.040 g, 0.10 mmol, 収率52%) を得た。

【0041】¹H-NMR (400MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ = 0.85 (3H, t, J = 7.1 Hz, CH₃), 1.20-1.48 (16H, m, C(4')H₂, C(5')H₂, C(6')H₂, C(7')H₂, C(12')H₂, C(13')H₂, C(14')H₂, C(15')H₂), 1.53-1.62 (2H, m, C(3')H₂), 2.09 (4H, t, J = 6.9 Hz, C(8')H₂, C(11')H₂), 2.31 (2H, t, J = 7.7 Hz, C(2')H₂), 3.92 (1H, ddd, J = 6.9, 9.1, 9.1 Hz, C(3)H), 4.15 (1H, dd, J = 5.3, 11.7 Hz, C(1)H), 4.18-4.27 (2H, m, C(1)H, C(3)H), 4.53 (1H, dddd, J = 5.3, 6.0, 6.0, 6.9 Hz, C(2)H).

【0042】試験例1

【0043】牛胸腺由来のDNAポリメラーゼα [Biochem. Biophys. Acta, 950, 263 (1988).] (5 mg)、活性化DNA (2 μg)、デオキシリボヌクレオチド三リン酸 (20 μM, 0.4 μCiの³H-dTTPを含む)、2-メルカプトエタノール (2 mM)、牛血清アルブミン (400 μg/mL)、10%グリセロール、塩化マグネシウム (10 mM

8

M)、トリス塩酸塩 (50 mM (pH 7.5)) を混合し、得られた反応液を50 μLとし、製造例3で得られた1-O-[(Z)-9-ヘキサデセノイル]グリセロール-2, 3-ホスフェートのナトリウム塩 (ene-PHYLPA) を各濃度で加え、各々37℃で60分間保温し反応させた。反応後、これを円形濾紙 (Whatman 3MM) にスポットし、10%トリクロロ酢酸で15分間固定・洗浄後、5%トリクロロ酢酸で15分間3回洗浄を繰り返し、さらに99%エタノールで洗浄した後、濾紙を乾燥させた。濾紙上の放射活性を、トルエンシンチレーターの中で、液体シンチレーションカウンター (Packard社, Tri-carb3255) を用いて測定し、合成されたDNAの定量を行った。表1に被験化合物を添加したときのDNAポリメラーゼαの活性を、被験化合物を添加しなかった時の相対比で表わした。

【0044】

【表1】

表1

化合物(I)の添加量 DNAポリメラーゼαの活性

20

無添加	100
5 μg/mL	82
10 μg/mL	69
20 μg/mL	41
40 μg/mL	11

【0045】試験例2

【0046】被験化合物として1-O-(9-ヘキサデシノイル)グリセロール-2, 3-ホスフェートのナトリウム塩 (yne-PHYLPA) を用いた以外は試験例1と同様にして、実施例1で得られた1-O-(9-ヘキサデシノイル)グリセロール-2, 3-ホスフェートのナトリウム塩 (yne-PHYLPA) のポリメラーゼαに対する阻害活性を求めた。表2に被験化合物を添加したときのDNAポリメラーゼαの活性を、被験化合物を添加しなかった時の相対比で表わした。

【0047】

【表2】

表2

化合物(II)の添加量 DNAポリメラーゼαの活性

40

無添加	100
5 μg/mL	97
10 μg/mL	87
20 μg/mL	57
40 μg/mL	21

【0048】

【発明の効果】本発明の1-O-アシルグリセロール-

(6)

特開平7-258278

9

10

2, 3-ホスフェートを有効成分とするDNAポリメラーゼ α の阻害剤は優れた阻害活性を有しており、制癌剤

としての有用性が期待される。

フロントページの続き

(72)発明者 室伏 きみ子

東京都文京区大塚2-1-1 お茶の水女子大学 理学部内